

α -アクチニンとG-アクチンの相互作用

山田 昇, 丸山工作(千葉大・理・生物), 菊地昌子
(東大・理・生化)

Interaction of G-actin with α -actinin

NOBORU YAMADA, KOSAKI MARUYAMA, MA-
SAKO KIKUCHI

筋肉のアクチンは Straub 以来, アセトンパウダーを水で抽出することにより調製されているが, アセトン処理せずに直接水で抽出すると, 抽出液中の ATPase により ATP が分解し, その結果抽出されたアクチンは変性してしまうということが, 黒田(1982)により示された。そこでミオシンを除いた筋原線維をよく水洗した後に, ATP を含む溶液で抽出することにより, 重合し得るアクチンを得た。

そのアクチンの物理化学的性質は, アセトンパウダーから得られたアクチンと変わりはみとめられなかったが, そのアクチンを精製する過程で低イオン強度でのアクチンと α -アクチニンの相互作用を示す結果が得られた。そこでその点について追究してみた。

低イオン強度で別々に調製した α -アクチニンとアクチンを加え, 12時間 0°C で incubate した後に, 50,000 rpm 4時間超遠心し, 上清と沈殿について電気泳動した。その結果, 溶液に 0.2 mM CaCl_2 あるいは 0.2 mM MgCl_2 を加えると沈殿が生じた。また電子顕微鏡で観察すると Ca 存在下では不定形の会合体が存在し, Mg 存在下では filamentous な構造が確認された。以上により, 低イオン強度でも α -アクチニンとアクチンは相互作用をし, それらは Ca あるいは Mg により促進されると考えられた。

さらに α -アクチニンとアクチンの相互作用により生じた complex は, 10mM KCl あるいは 0.2mM MgCl_2 という低イオン強度でのアクチンの重合を促進すること, アクチン重合のさいの核になるということもわかった。

トロポミオシンの抽出に及ぼすトリクロロ酢酸の効果

高城 忠, 尾崎節子(東学大・生物)

Effect of trichloroacetic acid on the isolation of tropomyosin

TADASHI ISHIMODA-TAKAGI, SETSUKO OZAKI

ムラサキウニロ器筋肉より TLCK 存在下で精製したトロポミオシンは, 低イオン強度下での粘度上昇がみられず, アクチンとの結合能もほとんど認められなかった。尿素を含む SDS 電気泳動では2本のバンドを形成し, このうちの1本がカルボキシペプチダーゼにより消化されたものである可能性が考えられたため, ウニロ器筋肉をトリクロロ酢酸(TCA)処理して, 組織中のタンパク質分解酵素を非特異的に失活させた後, 筋肉粗抽出液を調製して調べたところ, 粗抽出液中にはトロポミオシン以外の成分はほとんど含まれていなかった。また TCA 処理筋より精製したトロポミオシン(TCA-TM)は, 尿素を含む SDS 電気泳動でも1本のバンドのみが形成され, 低イオン強度下での重合能やアクチンとの結合能も有していた。この TCA-TM をカルボキシペプチダーゼ処理して調べたところ, TCA 非処理筋より精製されたトロポミオシンの電気泳動で認められた2本のバンドのうちの1本は, カルボキシペプチダーゼ様酵素の消化によることが強く示唆された。この様にウニロ器筋肉トロポミオシンの精製に関して, 筋肉の TCA 処理は, 組織中のタンパク質分解酵素の作用を非特異的に抑え, トロポミオシン以外の混入物をより減少させるのに極めて有効であることがわかった。次にトロポミオシン抽出への TCA 処理の効果の普遍性を調べるために, ニワトリ, タイラギ, イセエビ筋肉を TCA 処理して筋肉粗抽出液を調製して調べたところ, トロポミオシン以外の混入物はかなり減少することまたタイラギ, イセエビ筋肉の場合, TCA 処理によりタンパク質分解酵素の影響を抑えることができることがわかった。